

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского  
Биология. Химия. Том 11 (77). 2025. № 4. С. 288–299.

**УДК 547.426.25**

**DOI 10.29039/2413-1725-2025-11-4-288-299**

## **ОПТИМИЗАЦИЯ СИНТЕЗА ДИАЛКИЛЗАМЕЩЕННОГО ГЛИЦЕРИНА ДЛЯ СОЗДАНИЯ АДРЕСНЫХ ЛИПОКОНЬЮГАТОВ**

**Липенский В. М., Новиков Д. С., Алексеева А. Ю., Шмендель Е. В., Маслов М. А.**

**ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет», Институт тонких  
химических технологий имени М. В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация**  
*E-mail: lipenskiy.v.m@gmail.com*

Поиск и разработка методов синтеза 1,2-ди-*O*-тетрадецил-*rac*-глицерина. Выделение и очистку синтезированных соединений осуществляли колоночной хроматографией на силикагеле, экстракцией, вакуумной перегонкой. Для подтверждения структуры использовался комплекс физико-химических методов анализа: ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии. Разработан новый метод синтеза 1,2-ди-*O*-тетрадецил-*rac*-глицерина исходя из аллилового спирта, который характеризуется простотой методов выделения и очистки промежуточных продуктов (вакуумная перегонка и колоночная хроматография на силикагеле), а также отсутствием побочных продуктов.

**Ключевые слова:** простые эфиры глицерина, липоконьюгаты, липосомы.

### **ВВЕДЕНИЕ**

С учетом стремительного развития биомедицинских технологий и увеличения онкологических и наследственных заболеваний доставка терапевтических нуклеиновых кислот (НК), таких как малые интерферирующие РНК (миРНК), короткошпилечные РНК (кшРНК), микроРНК (мкРНК) и матричные РНК (мРНК), ДНК, олигодезоксинуклеотиды (ОДН) [1, 2], в очаг заболевания является одной из наиболее актуальных проблем в области разработки новых методов лечения, например, генной терапии. Эффективная доставка НК в клетки-мишени осуществима лишь с помощью векторов доставки (ВД) [3]. Среди искусственных ВД активно исследуются катионные липосомы (КЛ), поверхность которых можно легко модифицировать путём введения в состав липидного бислоя различных липофильных компонент [4]. Для образования устойчивых комплексов КЛ с НК – липоплексов – липосомы формируют на основе катионных липидов [5, 6], таких как DOTAP, EPC и др. [7]. Для реализации стратегии активного нацеливания липоплексов на клетки-мишени в состав КЛ включают липоконьюгаты с адресными лигандами. Выбор подходящего лиганда основан на специфичности микроокружения клеток-мишеней и высокой экспрессии рецепторов на их поверхности [8]. В качестве лигандов используют биотин (стабильно связывается с авидиноподобными белками, которые сверхпродуцируются раковыми клетками [9]), аптамеры (синтетические олигонуклеотиды, которые могут связываться с молекулами из микроокружения опухолевых клеток [10]), фолиевая кислота

(обладает высокой специфичностью в отношении опухолей, избыточно экспрессирующих фолатные рецепторы [11, 12]), RGD-пептиды (обладают сродством к  $\alpha_v$ -интегринам, избыточно экспрессирующихся раковыми клетками [13]).

Адресные гидрофильные лиганды, обычно ковалентно связаны с гидрофобным липидным «якорем», который обеспечивает встраивание в КЛ и экспонирование лиганда на их поверхности. В качестве липидного «якоря» используют фосфолипиды, например, 1,2-ди-*O*-стеароилфосфатидилэтаноламин (DSPE) [14], 3,4-диолеоилбензойную кислоту (DOB) [15], диацильные производные L-лизин-содержащих пептидов [16], а также природные и синтетические диацил- [17] и диалкилзамещённые глицирины [12, 18].

Помимо создания адресных липоконъюгатов DSPE, диацил- и диалкилзамещённые глицирины находят применение в синтезе полиэтиленгликоль (ПЭГ)-содержащих липоконъюгатов. ПЭГи с молекуллярной массой в диапазоне от 500 до 20 000 Да образуют гидрофильный «защитный» барьер на поверхности липоплексов, что увеличивает их время циркуляции в кровотоке организма путём снижения степени адсорбции белков плазмы крови [19–21].

Диалкилзамещённые глицирины могут быть получены синтетическим путём. Ранее для синтеза катионных липидов, ПЭГ-липидов, адресных липидов нами был использован 1,2-ди-*O*-тетрадецил-*rac*-глицирин [12, 22, 23]. Входящие в состав этого диглицерида тетрадецильные заместители обеспечивают встраивание соединений в липидный бислой, устойчивы к гидролизу клеточными ферментами при сохранении низкой цитотоксичности в отношении эукариотических клеток [12]. Введение двух одинаковых алкильных заместителей в молекулу глицирина построено на получении ключевого интермедиата – монозащищённого по первичной гидроксильной группе глицирина (рис.1). В качестве защитных групп могут быть использованы бензильная [24], бензоильная [25], тритильная и ее модификации [26], *tert*-бутилдиметилсилильная [27], аллильная [28]. Сам интермедиат может быть получен из глицирина или аллилового спирта [28, 29]. В случае изопропилиденового производного глицирина необходимо подбирать ортогональную группу, которая устойчива к ацидолизу и при этом не должна быть объёмной для эффективного алкилирования по C(2) положению глицирина.

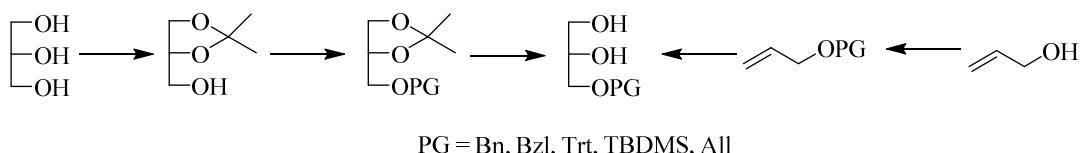


Рис 1. Общая схема получения монозащищённого по положению С(1) глицирина.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для работы использовали аллиловый спирт (Aldrich); *rac*-глицидол, 3,4-дигидропиран (Acros); *n*-толуолсульфоновую кислоту (ООО «Кемикал Лайн»); 1-бромтетрадекан (Macklin); Celite 545<sup>®</sup> (Supelco); обезвоженные над натрием растворители: бензол, ТГФ; над молекулярными ситами 4 Å: ДМФА; над СаН<sub>2</sub>: ДХМ, а также перегнанные растворители: толуол, этилацетат, петролейный эфир.

Тонкослойную хроматографию проводили на пластинах Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck, Германия). Обнаружение пятен на хроматограммах проводили раствором фосформолибденовой кислотой – церий (IV) сульфат с последующим прогреванием. Использованные системы для ТСХ: толуол – этилацетат, 10:1 (А); этилацетат – метанол, 5:1 (Б); толуол – этилацетат, 2:1 (В); толуол – этилацетат, 5:1 (Г); петролейный эфир – этилацетат, 6:1 (Д). Колоночную хроматографию осуществляли на силикагеле Kieselgel 60 (0.040 – 0.063 мм, Merck, Германия).

Спектры <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-ЯМР, <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY регистрировали на импульсном фурье-спектрометре Bruker DPX 300 (Германия) в CDCl<sub>3</sub> (внутренний стандарт CHCl<sub>3</sub>, δ = 7.26 м.д.). Значения химических сдвигов (δ) приведены в миллионных долях (м.д.), константы спин-спинового взаимодействия (J) в герцах (Гц). Масс-спектры регистрировали на масс-спектрометре ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье Ареx Ultra (Bruker, Германия). ГХ-МС-спектры регистрировали на хромато-масс-спектрометре Agilent 6890N/5973N (США). Температуру плавления измеряли на анализаторе точки плавления SMP-10 Stuart (Великобритания).

### 2-Аллилокситетрагидропиран (2)

К раствору аллилового спирта (1) (1.02 г, 17.56 ммоль) в безводном ДХМ (10 мл) добавили 3,4-дигидропиран (1.785 г, 21.23 ммоль), *n*-толуолсульфоновую кислоту (0.01 г, 0.058 ммоль) и перемешивали 12 ч при 25 °С. Затем к реакционной смеси добавили K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.5 г, 10.85 ммоль) и перемешивали на 2 ч. Смесь фильтровали через Celite 545<sup>®</sup>, органические растворители удалили в вакууме. Целевой продукт перегоняли в вакууме (8 мбар), получая соединение 2 в виде бесцветной жидкости с выходом 68% (1.705 г), R<sub>f</sub> = 0.5 (А). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (δ, м.д., J, Гц): 1.44 – 1.65 (m, 4H, CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.65 – 1.93 (m, 2H, CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.42 – 3.56 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.80 – 3.89 (m, 1H, OCHOC<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), 3.91 – 4.02 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>O), 4.14 – 4.28 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>O), 4.58 – 4.68 (m, 1H, OCH(O)CH<sub>2</sub>), 5.15 (dd, J = 1.7, 2.0, 10.3 Гц, 1H, CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>), 5.28 (dd, J = 1.7, 17.2 Гц, 1H, CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>), 5.92 (m, 1H, CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (δ, м.д.): 19.52, 25.54, 30.68, 62.23, 68.06, 97.96, 116.84, 134.76.

### 1-O-Тетрагидропиридин-*rac*-глицерин (3)

Из соединения 2: к соединению 2 (0.557 г, 3.92 ммоль) добавили раствор KMnO<sub>4</sub> (0.629 г, 3.98 ммоль) в воде (20 мл). Реакционную смесь перемешивали 16 ч при 0 °С, затем экстрагировали ДХМ (3×50 мл), сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали, органические растворители удалили в вакууме. Целевой продукт выделили с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, элюируя системами

петролейный эфир – этилацетат (5 : 1 → 1 : 4), получая соединение **3** в виде бесцветного масла с выходом 71% (0.488 г).

Из соединения **4**: к раствору глицерина (**4**) (10.0 г, 108.6 ммоль) в ДМФА (3 мл) и ТГФ (25 мл), охлажденному до 0 °C, добавили 3,4-дигидропиран (7.4 г, 87.7 ммоль) и *n*-толуолсульфоновую кислоту (0.17 г, 0.80 ммоль), и перемешивали 4 ч при 0 °C. Затем в реакционную смесь добавили 3% водн. раствор КНСО<sub>3</sub> (3 мл), органические растворители удалили в вакууме, затем добавили воду (8 мл) и экстрагировали смесью (этилацетат – гексан, 1:1 об., 15 мл), органический экстракт промывали насыщенным водн. раствором NaCl (3×30 мл), сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали, органические растворители удалили в вакууме. Целевой продукт **3** выделили колоночной хроматографией на силикагеле с выходом 35% (5.10 г). R<sub>f</sub> = 0.5 (Б). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (δ, м.д., J, Гц): 1.42 – 1.64 (m, 4H, CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.66 – 1.89 (m, 2H, CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 2.92 (t, J 5.8, 1H, CH<sub>2</sub>OH), 3.42 – 3.93 (m, 8H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, CHO<sub>2</sub>, HOCH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>2</sub>O, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, HOCH<sub>2</sub>CH), 4.44 – 4.58 (m, 1H, OCH(OCH<sub>2</sub>)CH<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (δ, м.д.): 20.08, 25.23, 30.76, 63.49, 63.90, 69.99, 70.99, 100.40.

### 1-*O*-Тетрагидропиридин-*rac*-глицидол (**6a**)

К раствору *rac*-глицидола (**5**) (0.399 г, 5.40 ммоль) в безводном ДХМ (10 мл) добавили 3,4-дигидропиран (0.545 г, 6.49 ммоль). К реакционной смеси добавили *n*-толуолсульфоновую кислоту (0.003 г, 0.017 ммоль) и перемешивали 10 ч при 25 °C, затем к реакционной смеси добавили K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.5 г, 3.62 ммоль) и перемешивали 1 ч. Смесь фильтровали через Celite 545®, органические растворители удалили в вакууме. Целевой продукт выделили с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, элюируя системой толуол – этилацетат (4:1), получая технический продукт (соединение **6a** и **6b**, в соотношении 10:1 масс.) в виде бесцветной маслянистой жидкости с выходом 30% (0.251 г). R<sub>f</sub> = 0.5 (В).

### *rac*-2,3-Дитетрадецилокси-1-тетрагидропиридинлоксипропан (**7**)

Из соединения **3**: раствор соединения **3** (4.56 г, 25.9 ммоль) и KOH (5.32 г, 94.7 ммоль) в бензоле (190 мл) нагрели до 80 °C, добавили 1-бромтетрадекан (21.9 г, 79.0 ммоль) и перемешивали с насадкой Дина-Старка 30 ч. Реакционную массу охладили до 25 °C добавили бензол (80 мл) и экстрагировали водой (5 × 120 мл), сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали, органические растворители удалили в вакууме. Целевой продукт выделили с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, элюируя системой толуол – этилацетат (40 : 1), получая соединение **7** в виде бесцветного масла с выходом 81% (11.95 г).

Из соединения **6a**: раствор соединения **6a** (0.069 г, 0.443 ммоль) и KOH (0.20 г, 3.57 ммоль) в толуоле (25 мл) кипятили с насадкой Дина-Старка в течении 4 ч. Затем к реакционной смеси добавили 1-бромтетрадекан (0.507 г, 1.828 ммоль) и перемешивали 120 ч при 80 °C. Реакционную массу охладили до 25 °C и экстрагировали насыщенным водн. раствором NaCl (4 × 10 мл), сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали, органические растворители удалили в вакууме. Целевой продукт **7** выделили с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с выходом 10% (0.024 г). R<sub>f</sub> = 0.69 (Г). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (δ, м.д., J, Гц): 0.87 (t, J 6.5, 6H,

2 ( $\text{CH}_2$ )<sub>11</sub> $\text{CH}_3$ ), 1.18 – 1.39 (m, 44H, 2 ( $\text{CH}_2$ )<sub>11</sub> $\text{CH}_3$ ), 1.46 – 1.88 (m, 10H, 2  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.40 – 3.63 (m, 9H, 2  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{CHCH}_2\text{OCH}_2$ ,  $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.73 – 3.90 (m, 2H,  $\text{CHOCH}_2\text{CH}$ ), 4.62 (t,  $J$  3.2, 1H,  $\text{OCH}(\text{O})\text{CH}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , м.д.): 14.25, 19.36, 19.54, 22.82, 25.61, 26.24, 29.50, 29.65, 29.83, 32.06, 61.93, 67.18, 70.73, 71.00, 71.78, 77.95, 98.81. Масс-спектр ESI,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}} (\%)$ ): 569.5499 [M+H]<sup>+</sup> (100). Вычислено для  $\text{C}_{36}\text{H}_{72}\text{O}_4^+$ : 569.5503 [M+H]<sup>+</sup>.

### 1,2-Ди- $O$ -тетрадецил-*rac*-глицерин (8)

К раствору соединения 7 (11.9 г, 21.0 ммоль) в метаноле (90 мл) добавили *n*-толуолсульфоновую кислоту (0.13 г, 0.074 ммоль) в безводном ДХМ (20 мл) и перемешивали 24 ч при 25 °C, затем добавили 3% водн. раствор  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (125 мл) и экстрагировали ДХМ (2 × 210 мл), затем объединили органический экстракт и промывали насыщенным водн. раствором  $\text{NaCl}$  (210 мл). Сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали, органические растворители удалили в вакууме. Соединение 8 получили в виде белых кристаллов с выходом 97% (9.86 г).  $R_f = 0.33$  (Д),  $T_{\text{пл}} = 52$  °C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м.д.,  $J$ , Гц): 0.88 (t,  $J$  6.9, 6H, 2( $\text{CH}_2$ )<sub>11</sub> $\text{CH}_3$ ), 1.15–1.40 (m, 44H, 2 ( $\text{CH}_2$ )<sub>11</sub> $\text{CH}_3$ ), 1.44–1.63 (m, 4H, 2  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.40–3.70 (m, 9H, 2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{CHCH}_2\text{OCH}_2$ ,  $\text{CHCH}_2\text{OH}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , м.д.): 14.26, 22.84, 26.25, 29.51, 29.77, 30.23, 32.07, 63.28, 70.55, 71.08, 72.02, 78.38.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1,2-Ди- $O$ -тетрадецил-*rac*-глицерин является исходным компонентом для создания синтетических липидов (катионных липидов, ПЭГ-липидов, адресных липидов), используемых для формирования катионных липосом, поэтому важной практической задачей становится разработка методов его препаративного получения. Ранее нами был описан синтез диалкилглицеринов из 1,2-изопропилиден-*rac*-глицерина [30]. Также известен синтез диалкилглицеринов, исходя из *rac*-глицидола, по гидроксильной группе которого вводится бензильная защита, с последующим раскрытием оксиранового цикла действием  $\text{NaN}$  и алкилбромида и удалением защитной группы гидрогенолизом [22]. Диглицерид, содержащий октадецильный и этильный заместитель по C(1) и C(2) положениям, был синтезирован по этому подходу с выходом 48 %. Однако, к недостаткам данного метода относят образование смеси моно- и дизамещённых продуктов на стадии раскрытия оксиранового цикла и использование бензилбромида, обладающего общим токсическим и ирритантным действием.

С целью оптимизации синтеза 1,2-ди- $O$ -тетрадецил-*rac*-глицерина нами предложено использовать тетрагидропиридиновую защитную группу (THP) вместо бензильной группы. В качестве исходных соединений для получения монозамещённого глицерина 3 (рис. 2) были использованы аллиловый спирт (1) и глицерин (4). Гидроксильную группу аллилового спирта функционализировали действием 3,4-дигидропирана в присутствии каталитического количества *n*-толуолсульфоновой кислоты [31], выделяя промежуточный продукт 2 перегонкой в вакууме (8 мбар) с выходом 68 %. Последующее окисление двойной связи соединения 2 по Вагнеру [29] водным раствором  $\text{KMnO}_4$  приводило к образованию

диола (**3**) с выходом 71 %. Соединение **3** также было получено из глицерина (**4**) по описанной выше методике с выходом 35 %, который обусловлен низкой конверсией глицерина, а также трудностями с выделением и очисткой продукта реакции из-за использования ДМФА в качестве растворителя. Введение алкильных заместителей в C(1) и C(2) положения соединения **3** осуществляли тетрадецилбромидом в основных условиях в безводном бензоле, получая триэфир глицерина (**7**) с выходом 81 %.

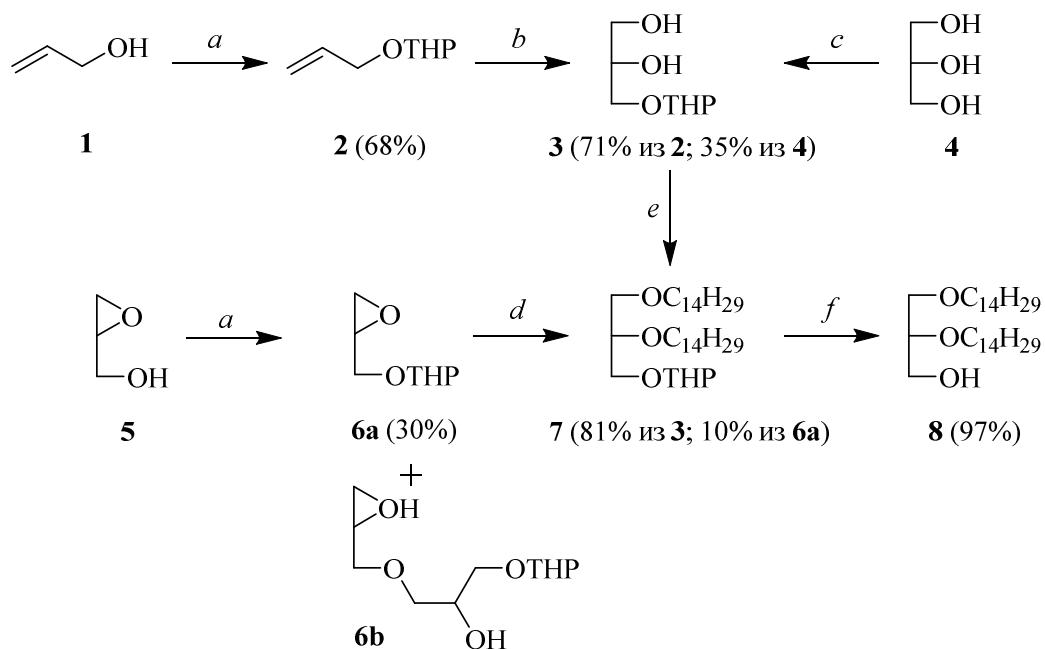


Рис. 2. Схема синтеза 1,2-ди-*O*-тетрадецил-*rac*-глицерина. Реагенты и условия:  
а) DHP, TsOH, DХМ, 25 °C; б) KMnO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, 0 °C; в) DHP, TsOH, ДМФА, ТГФ, 0 °C;  
д) C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>Br, KOH, толуол, 80 °C; е) C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>Br, KOH, бензол, 80 °C; ф) TsOH, метанол,  
ДХМ, 25 °C.

Также синтез соединения **7** осуществляли исходя из *rac*-глицидола (**5**). При введении тетрагидропиридинильной защиты образование целевого продукта реакции **6a** сопровождалось появлением побочного соединения **6b**, имеющего схожую хроматографическую подвижность на силикагеле. Технический продукт, представляющий собой смесь соединений **6a** и **6b**, был проанализирован с помощью хромато-масс-спектрометрии. Было установлено, что времена удерживания для соединений **6a** и **6b** отличаются и составляют 13.05 и 14.65 мин, соответственно, а сами соединения образуются в соотношении 10 : 1 масс. Технический продукт алкилировали тетрадецилбромидом в основных условиях в бензоле, выделяя соединение **7** с выходом 10 %. Целевой 1,2-ди-*O*-тетрадецил-*rac*-глицерин (**8**) получали в ходе удаления тетрагидропиридинильной защиты ацидолизом [32] с выходом 97 %.

Таким образом в данной работе 1,2-ди-*O*-тетрадецил-*rac*-глицерин (**8**) был получен с использованием трех подходов исходя из аллилового спирта, глицерина и глицидола. Наибольший общий выход соединения **8** составил 38 %, исходя из аллилового спирта (**2**), а наименьший 3 % из *rac*-глицидола (**5**). При этом синтез из *rac*-глицидола и глицерина характеризуется наименьшим количеством синтетических стадий, однако синтез из глицерина проходит быстрее (56 ч), чем из *rac*-глицидола (158 ч). Общее количество времени, затраченного на синтез из аллилового спирта, составило 84 ч.

Полученные результаты коррелируют с литературными данными, например, из 1,2-изопропилиден-*rac*-глицерина с применением тритильной защиты получали 1-*O*-метил-2-*O*-гексадецил-*rac*-глицерин за 53 ч с выходом 28 % [33], а 1,2-ди-*O*-тетрадецил-*rac*-глицерин с применением бензильной защиты был синтезирован за 72 ч с выходом 44 % [34]. 1,2-Ди-*O*-(3,7,11,15-тетраметилгексадецил)-*rac*-глицерин был получен из 1-*O*-бензил-*rac*-глицерина за 80 ч с выходом 40 % [35].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Осуществлен синтез 1,2-ди-*O*-тетрадецил-*rac*-глицерина исходя из аллилового спирта, глицерина и глицидола.
2. Получение диалкилглицерина из аллилового спирта характеризуется простотой методов выделения и очистки промежуточных продуктов (вакуумная перегонка и колоночная хроматография на силикагеле), отсутствием побочных продуктов и позволяет получить целевой диглицерид с выходом 38 % за 84 ч.
3. Полученный 1,2-ди-*O*-тетрадецил-*rac*-глицерин в дальнейшем будет использован для создания адресных липоконъюгатов и исследования их свойств в составе катионных липосом для доставки терапевтических нуклеиновых кислот в эукариотические клетки-мишени.

Синтез 2-аллилокситетрагидропирана (**2**), 1-*O*-тетрагидропиранил-*rac*-глицерина (**3**), 1-*O*-тетрагидропиранил-*rac*-глицидола (**6a**) выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 23-73-10168). Синтез *rac*-2,3-дитетрадецилокси-1-тетрагидропиранилоксипропана (**7**) и 1,2-ди-*O*-тетрадецил-*rac*-глицерина (**8**) выполнен при финансовой поддержке Минобрнауки России, проект № 0706-2023-0004. Спектры  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -ЯМР,  $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY, ГХ-МС зарегистрированы с использованием оборудования ЦКП РГУ МИРЭА при поддержке Минобрнауки России в рамках Соглашения №075-15-2025-548 от 18.06.2025 г.

### Список литературы

1. Yan J. Lipid nanovehicles overcome barriers to systemic RNA delivery: Lipid components, fabrication methods, and rational design / J. Yan, H. Zhang, G. Li [et al.] // Acta Pharm. Sin. B. The Authors. – 2024. – Vol. 14, № 2. – P. 579–601.
2. Roberts T. C. Advances in oligonucleotide drug delivery / T. C. Roberts, R. Langer, M. J. A. Wood // Nat. Rev. Drug Discov. Springer US. – 2020. – Vol. 19, № 10. – P. 673–694.

3. Luiz M. T. Targeted Liposomes: A Nonviral Gene Delivery System for Cancer Therapy / M. T. Luiz, J. A. P. Dutra, L. B. Tofani [et al.] // Pharmaceutics. – 2022. – Vol. 14, № 4. – P. 1–31.
4. Kabilova T. O. Targeted delivery of nucleic acids into xenograft tumors mediated by novel folate-equipped liposomes / T. O. Kabilova, E. V. Shmendel, D. V. Gladkikh [et al.] // Eur. J. Pharm. Biopharm. Elsevier. – 2018. – Vol. 123. – P. 59–70.
5. Jiang J. Sequential treatment of drug-resistant tumors with RGD-modified liposomes containing siRNA or doxorubicin / J. Jiang, S. Yang, J. Wang [et al.] // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2010. – Vol. 76, № 2. – P. 170–178.
6. Yang D. Liposomes incorporating transferrin and stearic acid-modified octa-arginine for siRNA delivery / D. Yang, X. Yang, R. Lee // Anticancer Res. – 2017. – Vol. 37, № 4. – P. 1759–1764.
7. Shukla T. Site-specific drug delivery, targeting, and gene therapy / T. Shukla, N. Upmanyu, S. Pandey [et al.] // Nanoarchitectonics in Biomedicine. Elsevier Inc. – 2019. – P. 473–505.
8. Tashima T. Effective cancer therapy based on selective drug delivery into cells across their membrane using receptor-mediated endocytosis / T. Tashima // Bioorganic Med. Chem. Lett. – 2018. – Vol. 28, № 18. – P. 3015–3024.
9. Hersch N. Biotin-conjugated fusogenic liposomes for high-quality cell purification / N. Hersch, B. Wolters, Z. Ungvari [et al.] // J. Biomater. Appl. – 2016. – Vol. 30, № 6. – P. 1–11.
10. Kulbachinskiy A. V. Methods for selection of aptamers to protein targets / A. V. Kulbachinskiy // Biochem. Maik Nauka-Interperiodica Publishing. – 2007. – Vol. 72, № 13. – P. 1505–1518.
11. Gupta A. Targeting of herbal bioactives through folate receptors: a novel concept to enhance intracellular drug delivery in cancer therapy / A. Gupta, C. Kaur, S. Saraf [et al.] // J. Recept. Signal Transduct. Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group. – 2017. – Vol. 37, № 3. – P. 314–323.
12. Shmendel E. Effects of spacers within a series of novel folate-containing lipoconjugates on the targeted delivery of nucleic acids / E. Shmendel, T. Kabilova, N. Morozova [et al.] // J. Drug Deliv. Sci. Technol. Elsevier. – 2020. – Vol. 57. – P. 1–8.
13. Li Z. Triple branched RGD modification on liposomes: A prospective strategy to enhance the glioma targeting efficiency / Z. Li, J. Lu, B. Tang [et al.] // Bioorganic Med. Chem. Elsevier Ltd. – 2022. – Vol. 60, № 17. – P. 1–10.
14. Yonenaga N. RGD-based active targeting of novel polycation liposomes bearing siRNA for cancer treatment / N. Yonenaga, E. Kenjo, T. Asai [et al.] // J. Control. Release. Elsevier B.V. – 2012. – Vol. 160, № 2. – P. 177–181.
15. Ewert K. Synthesis of linear and cyclic peptide-PEG-lipids for stabilization and targeting of cationic liposome-DNA complexes / K. Ewert, V. Kotamraju, R. Majzoub [et al.] // Bioorganic Med. Chem. Lett. Elsevier Ltd. – 2016. – Vol. 26, № 6. – P. 1618–1623.
16. Levine R. Targeting HPV-infected cervical cancer cells with PEGylated liposomes encapsulating siRNA and the role of siRNA complexation with polyethylenimine / R. Levine, C. Dinh, M. Harris [et al.] // Bioeng. Transl. Med. – 2016. – Vol. 1, № 2. – P. 1–13.
17. Патент WO 2023/282771 A1. Coronavirus vaccine composition. Заявитель: Feldman R. G. [et al.]; опубл. 12.01.2023.
18. Ivanova E. A. Synthesis of bivalent neogalactolipids via modified Staudinger reaction / E. A. Ivanova, M. A. Maslov, N. G. Morozova [et al.] // RSC Adv. 2012. – Vol. 2, № 11. – P. 4600–4602.
19. Bergström K. Reduction of fibrinogen adsorption on PEG-coated polystyrene surfaces / K. Bergström, K. Holmberg, A. Safranj [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. – 1992. – Vol. 26, № 6. – P. 779–790.
20. Lin B. Poly(ethylene glycol)-grafted silica nanoparticles for highly hydrophilic acrylic-based polyurethane coatings / B. Lin, S. Zhou // Prog. Org. Coatings. – 2017. – Vol. 106. – P. 145–154.
21. Shin J. Acid-labile mPEG-vinyl ether-1,2-dioleylglycerol lipids with tunable pH sensitivity: Synthesis and structural effects on hydrolysis rates, DOPE liposome release performance, and pharmacokinetics / J. Shin, P. Shum, J. Grey [et al.] // Mol. Pharm. 2012. – Vol. 9, № 11. – P. 3266–3276.
22. Шмендель Е. В. Синтез новых углеводсодержащих катионных алкильных глицеролипидов с противоопухолевой активностью / Е. В. Шмендель, К. А. Перевоцникова, Д. К. Шишова [и др.] // Изв. Ак. Наук. Серия Хим. – 2015. – Vol. 64, № 7. – P. 1648–1654.
23. Nikolaeva M. E. New Cysteine-Containing PEG-Glycerolipid Increases the Bloodstream Circulation Time of Upconverting Nanoparticles / M. E. Nikolaeva, A. V. Nechaev, E. V. Shmendel [et al.] // Molecules. – 2022. – Vol. 27, № 9. – P. 1–9.

24. Perevoshchikova K. A. Synthesis of novel lipophilic tetraamines with cytotoxic activity / K. A. Perevoshchikova, A. I. Nichugovskiy, A. K. Isagulieva [et al.] // Mendeleev Commun. Elsevier Srl. – 2019. – Vol. 29, № 6. – P. 616–618.
25. Nascimento T. Synthesis of natural 1- O -alkylglycerols: A study on the chemoselective opening of the epoxide ring by onium quaternary salts (N and P) and ionic liquids / T. Nascimento, E. Braga, C. Gomes [et al.] // RSC Adv. – 2019. – Vol. 10, № 2. – P. 1050–1054.
26. Sato S. Occurrence of a bacterial membrane microdomain at the cell division site enriched in phospholipids with polyunsaturated hydrocarbon chains / S. Sato, J. Kawamoto, S.B. Sato [et al.] // J. Biol. Chem. – 2012. – Vol. 287, № 29. – P. 24113–24121.
27. Van Den Bossche J. Improved plasmalogen synthesis using organobarium intermediates / J. Van Den Bossche, J. Shin, D. H. Thompson // J. Org. Chem. 2007. – Vol. 72, № 13. – P. 5005–5007.
28. Raskil'dina G. Z. Selective functionalization of the primary hydroxy group in triols / G. Z. Raskil'Dina, V. F. Valiev, R. M. Sultanova. [et al.] // Russ. J. Appl. Chem. 2015. – Vol. 88, № 10. – P. 1599–1604.
29. Barry P. J. Synthesis of symmetrical diglycerides from dihydroxy acetone and allyl alcohol / P. J. Barry, B. M. Craig // Can. Sci. Publ. Can. J. Chem. – 1954. № 184. – P. 716–721.
30. Shmendel E. V. Synthesis of neoglycolipids for the development of non-viral gene delivery systems / E. V. Shmendel, M. A. Maslov, N. G. Morozova [et al.] // Russ. Chem. Bull. – 2010. – Vol. 59, № 12. – P. 2281–2289.
31. Bittman R. Conversion of methylallyl alcohol into C2-methyl-1,2-di-O-hexadecylglycerophosphocholine, a conformationally restricted phospholipid / R. Bittman, N. M. Witzke // Chem. Phys. Lipids. – 1989. – Vol. 50, № 2. – P. 99–103.
32. Singh A. Oxidative carbon-carbon bond cleavage is a key step in spiroacetal biosynthesis in the fruit fly Bactrocera cacuminata / A. Singh, J. Rowley, B. Schwartz // J. Org. Chem. – 2014. – Vol. 79, № 17. – P. 7799–7821.
33. Jiang G. Phosphorothioate analogs of sn-2 radyl lysophosphatidic acid (LPA): Metabolically stabilized LPA receptor agonists / G. Jiang, A. Inoue, J. Aoki [et al.] // Bioorganic Med. Chem. Lett. – 2013. – Vol. 23, № 6. – P. 1865–1869.
34. Bajaj A. Structure-activity investigation on the gene transfection properties of cardiolipin mimicking gemini lipid analogues / A. Bajaj, B. Paul, P. Kondaiah [et al.] // Bioconjug. Chem. – 2008. – Vol. 19, № 6. – P. 1283–1300.
35. Andersson J. Synthesis and Characterization of Novel Anchorlipids for Tethered Bilayer Lipid Membranes / J. Andersson, J. Knobloch, M. Perkins [et al.] // Langmuir. – 2017. – Vol. 33, № 18. – P. 4444–4451.

## **OPTIMIZATION OF THE SYNTHESIS OF DIALKYL-SUBSTITUTED GLYCEROLS TO CREATE TARGETED LIPOCONJUGATES**

**Lipenskiy V. M., Novikov D. S., Alekseeva A. Y., Shmendel E. V., Maslov M. A.**

*Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA—Russian Technological University,  
Moscow, Russian Federation  
E-mail: lipenskiy.v.m@gmail.com*

Previously, 1,2-di-*O*-tetradecyl-*rac*-glycerol has been used as a lipid “anchor” for the syntheses of cationic lipids, PEG-modified lipids, and targeted lipoconjugates. The tetradecyl residues of this dialkylglycerol provide incorporation of these compounds into the lipid bilayer, and the lipids exhibit resistance to hydrolysis by cellular enzymes, and maintain low cytotoxicity toward eukaryotic cells. An important practical challenge is the

development of preparative methods for theirs synthesis. We previously reported the synthesis of dialkylglycerols from 1,2-isopropylidene-*rac*-glycerol. Another known method starts from *rac*-glycidol, but it suffers from drawbacks such as the formation of mixed mono- and disubstituted products and the usage of toxic and irritant benzyl bromide

In order to optimize the synthesis of 1,2-di-*O*-tetradecyl-*rac*-glycerol, we proposed to use a tetrahydropyranyl protective group (THP). Allyl alcohol (**1**) and glycerol (**4**) were maintained as the starting compounds to obtain monosubstituted glycerol **3**. The hydroxyl group of allyl alcohol was functionalized by treatment with 3,4-dihydropyran in the presence of a catalytic amount of *p*-toluenesulfonic acid. Intermediate **2** was isolated by distillation under vacuum in 68 % yield. Subsequent oxidation of double bond under Wagner's condition by treatment of compound **2** with an aqueous KMnO<sub>4</sub> solution resulted in the formation of diol **3** in 71 % yield. Compound **3** was also obtained from glycerol **4** according to the method described above with a yield of 35 %. The reduce yield can be attributed to inefficient conversion of glycerol, as well as to difficulties in the product isolation caused by the use of DMF as a solvent. The introduction of alkyl substituents at the C(1) and C(2) positions of compound **3** was carried out with tetradecyl bromide under basic conditions in anhydrous benzene, and gave glycerol triether (**7**) in 81 % yield.

Thin-layer chromatography was performed on Kieselgel 60 F<sup>254</sup> plates (Merck, Germany). Column chromatography was performed on Kieselgel 60 silica gel (0.040 – 0.063 mm, Merck, Germany). The <sup>13</sup>C-, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY spectra were recorded on a Bruker DPX 300 pulsed Fourier spectrometer (Germany) in CDCl<sub>3</sub>. The mass spectra were recorded on a Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer Apex Ultra (Bruker, Germany). GC-MS spectra were recorded on chromatograph-mass-spectrometer Agilent 6890N/5973N (USA). The melting point was measured on a SMP-10 Stuart melting point analyzer (UK).

In this study, 1,2-di-*O*-tetradecyl-*rac*-glycerol was obtained using three approaches starting from allyl alcohol, glycerol, or glycidol. The highest overall yield of compound **8**, synthesized from allyl alcohol (**2**), was 38 %, while the lowest was only 3 % when derived from *rac*-glycidol (**5**). Although the synthesis based on racemic glycidol and glycerol required fewer synthetic steps, but the synthesis from glycerol proceeded faster (56 h) compare to *rac*-glycidol (158 h). The obtained 1,2-di-*O*-tetradecyl-*rac*-glycerol will be further utilized to develop targeted lipconjugates and investigate their properties within cationic liposomes designed for delivery of therapeutic nucleic acids into eukaryotic target cells.

**Keywords:** glycerol esters, lipoconjugates, liposomes.

## References

1. Yan J., Zhang H., Li G., Su J., Wei Y., Xu C., Lipid nanovehicles overcome barriers to systemic RNA delivery: Lipid components, fabrication methods, and rational design, *Acta Pharm. Sin. B*, **14** (2), 579 (2024).
2. Roberts T., Langer R., Wood M. J. A., Advances in oligonucleotide drug delivery, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **19** (10), 673 (2020).
3. Luiz M., Dutra J., Tofani L., de Araújo J., Di Filippo L., Marchetti J., Chorilli M., Targeted Liposomes: A Nonviral Gene Delivery System for Cancer Therapy, *Pharmaceutics*, **14** (4), 1 (2022).

4. Kabilova T. O., Shmendel E. V., Gladkikh D. V., Chernolovskaya E. L., Markov O. V., Morozova N. G., Maslov M. A., Zenkova M. A., Targeted delivery of nucleic acids into xenograft tumors mediated by novel folate-equipped liposomes, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **123**, 59 (2018).
5. Jiang J., Yang S. J., Wang J. C., Yang L. J., Xu Z. Z., Yang T., Liu X. Y., Zhang Q., Sequential treatment of drug-resistant tumors with RGD-modified liposomes containing siRNA or doxorubicin, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **76** (2), 170 (2010).
6. Yang D., Yang X., Lee R.-J., Liu S., Xie J., Liposomes incorporating transferrin and stearic acid-modified octa-arginine for siRNA delivery, *Anticancer Res.*, **37** (4), 1759 (2017).
7. Shukla T., Upmanyu N., Pandey S. P., Sudheesh, M. S., Site-specific drug delivery, targeting, and gene therapy, *Nanoarchitectonics in Biomedicine*, 473 (2019).
8. Tashima T., Effective cancer therapy based on selective drug delivery into cells across their membrane using receptor-mediated endocytosis, *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, **28** (18), 3015 (2018).
9. Hersch N., Wolters B., Ungvari Z., Gautam T., Deshpande D., Merkel R., Csiszar A., Hoffmann B., Csiszár A., Biotin-conjugated fusogenic liposomes for high-quality cell purification, *J. Biomater. Appl.*, **30** (6), 1 (2016).
10. Kulbachinskiy A. V., Methods for selection of aptamers to protein targets, *Biochem.*, **72** (13), 1505 (2007).
11. Gupta A., Kaur C. D., Saraf S., Saraf S., Targeting of herbal bioactives through folate receptors: a novel concept to enhance intracellular drug delivery in cancer therapy, *J. Recept. Signal Transduct.*, **37** (3), 314 (2017).
12. Shmendel E., Kabilova T., Morozova N., Zenkova M., Maslov M., Effects of spacers within a series of novel folate-containing lipoconjugates on the targeted delivery of nucleic acids, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, **57**, 1 (2020).
13. Li Z., Lu J., Tang B., Shi Y., Hai L., Guo L., Wu Y., Triple branched RGD modification on liposomes: A prospective strategy to enhance the glioma targeting efficiency, *Bioorganic Med. Chem.*, **60** (17), 1 (2022).
14. Yonenaga N., Kenjo E., Asai T., Tsuruta A., Shimizu K., Dewa T., Nango M., Oku N., RGD-based active targeting of novel polycation liposomes bearing siRNA for cancer treatment, *J. Control. Release*, **160** (2), 177 (2012).
15. Ewert K., Kotamraju V., Majzoub R., Steffes V., Wonder E., Teesalu T., Ruoslahti E., Safinya C., Synthesis of linear and cyclic peptide–PEG–lipids for stabilization and targeting of cationic liposome–DNA complexes, *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, **26** (6), 1618 (2016).
16. Levine R. M., Dinh C. V., Harris M. A., Kokkoli E., Targeting HPV-infected cervical cancer cells with PEGylated liposomes encapsulating siRNA and the role of siRNA complexation with polyethylenimine, *Bioeng. Transl. Med.*, **1** (2), 1 (2016).
17. Patent WO 2023/282771 A1. Coronavirus vaccine composition. Inventors: Feldman R. G. [et al.]; Publication Date 12.01.2023.
18. Ivanova E. A., Maslov M. A., Morozova N. G., Serebrennikova G. A., Chupin V. V., Synthesis of bivalent neogalactolipids via modified Staudinger reaction, *RSC Adv.*, **2** (11), 4600 (2012).
19. Bergström K., Holmberg K., Safranj A., Hoffman A., Edgell M., Kozlowski A., Hovanes B., Harris J., Reduction of fibrinogen adsorption on PEG-coated polystyrene surfaces, *J. Biomed. Mater. Res.*, **26** (6), 779 (1992).
20. Lin B., Zhou S., Poly(ethylene glycol)-grafted silica nanoparticles for highly hydrophilic acrylic-based polyurethane coatings, *Prog. Org. Coatings*, **106**, 145 (2017).
21. Shin J., Shum P., Grey J., Fujiwara S., Malhotra G., González-Bonet A., Hyun S., Moase E., Allen T., Thompson D., Acid-labile mPEG-vinyl ether-1,2-dioleylglycerol lipids with tunable pH sensitivity: Synthesis and structural effects on hydrolysis rates, DOPE liposome release performance, and pharmacokinetics, *Mol. Pharm.*, **9** (11), 3266 (2012).
22. Shmendel E. V., Perevoshchikova K. A., Shishova D. K., Maslov M. A., Morozova N. G., Shtil A. A., Synthesis of new carbohydrate-containing cationic alkyl glycerolipids with antitumor activity, *Russian Chemical Bulletin.*, **64** (7), 1648 (2015). (in Russ.)
23. Nikolaeva M. E., Nechaev A. V., Shmendel E. V., Akasov R. A., Maslov M. A., Mironov A. F., New Cysteine-Containing PEG-Glycerolipid Increases the Bloodstream Circulation Time of Upconverting Nanoparticles, *Molecules*, **27** (9), 2763 (2022).

24. Perevoshchikova K. A., Nichugovskiy A. I., Isagulieva A. K., Morozova N. G., Ivanov I. V., Maslov M.A., Shtil A.A., Synthesis of novel lipophilic tetraamines with cytotoxic activity, *Mendeleev Commun.*, **29** (6), 616 (2019).
25. Nascimento T. S., Braga E. F., Casaes Gomes G. C., Batista W. R., Mazzei Albert A. L., Capella Lopes R. S., Lopes C. C., Synthesis of natural 1- O -alkylglycerols: A study on the chemoselective opening of the epoxide ring by onium quaternary salts (N and P) and ionic liquids, *RSC Adv.*, **10** (2), 1050 (2019).
26. Sato S., Kawamoto J., Sato S. B., Watanabe B., Hiratake J., Esaki N., Kurihara T., Occurrence of a bacterial membrane microdomain at the cell division site enriched in phospholipids with polyunsaturated hydrocarbon chains, *J. Biol. Chem.*, **287** (29), 24113 (2012).
27. Van Den Bossche J., Shin J., Thompson D. H., Improved plasmalogen synthesis using organobarium intermediates, *J. Org. Chem.*, **72** (13), 5005 (2007).
28. Raskil'dina G. Z., Valiev V. F., Sultanova R. M., Zlotskii, S. S., Selective functionalization of the primary hydroxy group in triols, *Russ. J. Appl. Chem.*, **88** (10), 1599 (2015).
29. Barry P. J., Craig B. M., Synthesis of symmetrical diglycerides from dihydroxy acetone and allyl alcohol, *Can. Sci. Publ. Can. J. Chem.*, (184), 716 (1954).
30. Shmendel E. V., Maslov M. A., Morozova N. G., Serebrennikova G. A., Synthesis of neoglycolipids for the development of non-viral gene delivery systems, *Russ. Chem. Bull.*, **59** (12), 2281 (2010).
31. Bittman R., Witzke N. M., Conversion of methylallyl alcohol into C2-methyl-1,2-di-O-hexadecylglycerophosphocholine, a conformationally restricted phospholipid, *Chem. Phys. Lipids*, **50** (2), 99 (1989).
32. Singh A. A., Rowley J. A., Schwartz B. D., Kitching W, De Voss J. J., Oxidative carbon-carbon bond cleavage is a key step in spiroacetal biosynthesis in the fruit fly *Bactrocera cacuminata*, *J. Org. Chem.*, **79** (17), 7799 (2014).
33. Jiang G., Inoue A., Aoki J., Prestwich, G. D., Phosphorothioate analogs of sn-2 radyl lysophosphatidic acid (LPA): Metabolically stabilized LPA receptor agonists, *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, **23** (6), 1865 (2013).
34. Bajaj A., Paul B., Kondaiah P., Bhattacharya S., Structure-activity investigation on the gene transfection properties of cardiolipin mimicking gemini lipid analogues, *Bioconjug. Chem.*, **19** (6), 1283 (2008).
35. Andersson J., Knobloch J. J., Perkins M. V., Holt S. A., Köper I., Synthesis and Characterization of Novel Anchorlipids for Tethered Bilayer Lipid Membranes, *Langmuir*, **33** (18), 4444 (2017).